

PESQUISA DE GENES ENVOLVIDOS NO TRANSPORTE DE GLICEROL EM SACCHAROMYCES CEREVISIAE

R.P. Oliveira* e C. Lucas

Dep. de Biologia, Universidade do Minho, 4709 Braga Codex, Portugal

S. cerevisiae acumula, em condições de *stress* osmótico, glicerol como soluto compatível, tendo-se verificado que a sua retenção está dependente, nestas condições ambientais, de um canal proteico codificado pelo gene *FPS1*⁽¹⁾. Por seu lado, recentemente, foi descrito para glicerol um transporte activo do tipo simporte com H⁺/glicerol, com carácter indutivo, detectável após crescimento em condições gluconeogénicas e presente também no mutante interrompido *fps1*^(1,2). A estratégia usada no presente trabalho consistiu na utilização de uma estirpe de *S. cerevisiae* mutante nos genes *GPD1* e *GPD2*, que codificam para as isoenzimas da glicerol-3P-desidrogenase como receptora de uma biblioteca genómica da mesma espécie, seguida de selecção fenotípica em meios de *stress* osmótico elevado na presença de algum glicerol exógeno. Para isso, elaborou-se um rastreio fenotípico de resistência a NaCl, sorbitol e sacarose, tendo sido seleccionados 30 clones que foram posteriormente submetidos a um rastreio fisiológico específico para o transporte de glicerol. Este consistiu em ensaios sobre (i) presença de alcalinização extracelular após adição de glicerol, (ii) capacidade de acumulação de glicerol contra gradiente e (iii) determinação das constantes cinéticas do transporte. Todos os ensaios foram repetidos em células cultivadas em glucose e em etanol para obviar à falta de detacção devida a inactivação do transportador pela glucose, tal como foi observado na estirpe selvagem⁽²⁾. Com esta metodologia foram seleccionados 5 clones sobre os quais se procede neste momento a estudos moleculares.

(1) Sutherland, F.; Lages, F.; Lucas, C.; Luyten, K.; Albertyn, K.; Hohmann, S.; Prior, B. and Kilian, S. (Submetido)

(2) Lages, F. and Lucas, C. *Biochim. Biophys. Acta*(1997) (*in press*)

Trabalho financiado pelo Projecto Europeu **BIOTECH PL 950161**

* Bolseiro de Doutoramento do mesmo projecto.